

**IN-VIVO-STUDIEN
ÜBER BRONCHIALE REAKTIONEN AUF
WIEDERHOLTE INHALATIVE HISTAMIN- UND
ALLERGENZUFUHR BEIM MEERSCHWEINCHEN**

Hannes Neuhauser

München 1985

Aus der Kinderpoliklinik der Universität München
Direktor: Professor Dr. med. H. Spiess

**IN-VIVO STUDIEN ÜBER BRONCHIALE REAKTIONEN AUF
WIEDERHOLTE INHALATIVE HISTAMIN- UND ALLERGEN-
ZUFUHR BEIM MEERSCHWEINCHEN**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Hannes Neuhauser
aus München

1985

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität
München

Berichterstatter: Professor Dr. H. Spiess

Mitberichterstatter: Professor Dr. H.J. Suschke

Dekan: Professor Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 25.7.1985

INHALTSVERZEICHNIS

1.	EINLEITUNG	1
2.	MATERIALIEN UND METHODEN	3
2.1.	Versuchstiere	3
2.2.	Sensibilisierung	3
2.3.	Inhalative Testung	4
2.3.1.	Inhalationstechnik	4
2.3.2.	Kurzfristige Intervallinhalation	5
2.3.3.	Langfristig wiederholte Inhalation	6
2.4.	Pharmaka	6
2.5.	Statistik	7
2.6.	Lungenfunktion	7
2.7.	Experimentelle Planung	8
2.7.1.	Versuche mit kurzfristiger Intervallinhalation	8
2.7.1.1.	Histamin ohne Vorbehandlung	8
2.7.1.2.	Histamin nach Histaminrezeptorenblocker	8
2.7.1.3.	Ovalbumin nach Histaminrezeptorenblocker	9
2.7.1.4.	Histamin nach Acetylsalicylsäure (ASS)	9
2.7.1.5.	Histamin nach SQ 80, 338	9
2.7.1.6.	Histamin nach MK 447	10
2.7.2.	Versuche mit langfristig wiederholter Inhalation	10
2.7.2.1.	Ovalbumin ohne Vorbehandlung	10
2.7.2.2.	Ovalbumin nach Indomethacin	11
2.7.2.3.	Ovalbumin nach ASS	11
2.7.2.4.	Histamin ohne Vorbehandlung	12
3.	ERGEBNISSE	13
3.1.	Versuche mit kurzfristiger Intervall- inhalation	13
3.1.1.	Histamin ohne Vorbehandlung	13
3.1.2.	Histamin nach Histaminrezeptorenblocker	15
3.1.3.	Ovalbumin nach Histaminrezeptorenblocker	15
3.1.4.	Histamin nach Acetylsalicylsäure (ASS)	19
3.1.5.	Histamin nach SQ 80, 338	19
3.1.6.	Histamin nach MK 447	22

3.2.	Versuche mit langfristig wiederholter Inhalation	22
3.2.1.	Ovalbumin ohne Vorbehandlung	22
3.2.2.	Ovalbumin nach Indomethacin	24
3.2.3.	Ovalbumin nach Acetylsalicylsäure (ASS)	25
3.2.4.	Histamin ohne Vorbehandlung	28
4.	DISKUSSION	29
4.1.	Versuche mit kurzfristiger Intervall-inhalation	29
4.2.	Versuche mit langfristig wiederholter Inhalation	40
5.	ZUSAMMENFASSUNG	43
6.	LITERATURVERZEICHNIS	45
	Danksagung	
	Lebenslauf	

1. EINLEITUNG

Auf wiederholte inhalative Testungen mit Ovalbumin reagieren sensibilisierte Meerschweinchen mit Asthmaanfällen, die von Inhalation zu Inhalation schwächer werden (11). Diesem Phänomen der Allergentachyphylaxie liegt nicht eine Erschöpfung der Mastzelle, sondern ein aktiver Selbstschutzmechanismus zu Grunde, der wahrscheinlich auf der vermehrten Biosynthese von Prostaglandin E beruht (12). In vitro konnte an Trachealmuskelstreifen von Hunden und Affen eine Tachyphylaxie auf Histamin demonstriert werden, die durch den aktiven Vorgang vermehrter Prostaglandin-E-Bildung zustande kommt (4, 5, 33). Unveröffentlichten Beobachtungen von Frey zufolge entwickeln sensibilisierte Meerschweinchen, die eine Woche lang einmal täglich mit Ovalbumin inhalativ getestet werden, binnen weniger Tage eine anhaltende Resistenz gegenüber dem Antigen.

Untersuchungsmodelle mit wiederholten inhalativen Testungen scheinen in der Asthmaforschung von Bedeutung, weil sie der klinischen Situation gerechter werden, als einmalige Untersuchungen. Regel- und Selbstschutzmechanismen, die über den akuten Asthmaanfall hinaus längerfristig wirksam sind, können mit mehrfach hintereinander durchgeführten sowie über längere Zeit einmal täglich wiederholten inhalativen Testungen erfaßt und untersucht werden.

Die Forschung der letzten Jahre beschäftigte sich intensiv mit der chemischen Darstellung und den pathophysiologischen Wirkungen von Arachidonsäureprodukten, die im Lipoxxygenaseweg entstehen. Sowohl hydro-

xy-eicosatetraenoische Säuren (HETEs) wie auch Leukotriene sind als Mediatoren allergischer und entzündlicher Reaktionen von großer Bedeutung. Demgegenüber halten manche Autoren die Cyclooxygenaseprodukte des Arachidonsäurekatabolismus, wie Prostaglandine und Thromboxane für weniger wichtig (22). Dem widersprechen nicht nur die Befunde einer Prostaglandin E vermittelten Allergen- und Histamintachyphylaxie. Verschiedene Beobachtungen machen deutlich, daß die Rolle der Cyclooxygenaseprodukte keineswegs geklärt ist. So ist immer noch unklar, welche Mechanismen der teils inhibitorischen, teils stimulierenden Wirkung von Cyclooxygenaseinhibitoren (z.B. Aspirin, Indomethacin) auf bronchialobstruktive Reaktionen im Einzelnen zugrunde liegen (1, 55, 57). Einiges deutet darauf hin, daß im Arachidonsäurekatabolismus Peroxide mit starken inflammatorischen Wirkungen entstehen (31, 32); die Rolle von Thromboxan bei der Pathogenese der Bronchialobstruktion ist noch nicht vollständig geklärt (47, 56), und Histamin-H₁- und Histamin-H₂-Rezeptoren vermitteln offensichtlich nicht nur antagonistische, sondern teilweise synergistische Effekte (2, 6, 30, 51).

Gegenstand dieser Arbeit war erstens die Frage, ob sich beim sensibilisierten Meerschweinchen in vivo eine Tachyphylaxie auf Histamin nachweisen läßt. In diesem Zusammenhang untersuchten wir, in welcher Weise bronchiale Reaktionen auf wiederholte Histamininhalationen durch Pharmaka beeinflußt werden, die in die Entstehungs- und Wirkungsmechanismen "klassischer" Mediatoren (Prostaglandine, Histamin) eingreifen. Zweitens gingen wir der Frage nach, ob täglich wiederholte Ovalbumin- bzw. Histamininhalationen beim sensibilisierten Meerschweinchen längerfristig wirksame endogene Schutzmechanismen induzieren und welche Rolle Prostaglandinsyntheseinhibitoren dabei spielen.

2. MATERIALIEN UND METHODEN

2.1. Versuchstiere

Wir untersuchten männliche Pirlbright white Meerschweinchen der Zuchtanstalt Ivanovas, D-7967 Kisslegg.

Zum Zeitpunkt der Sensibilisierung waren die Tiere 200 bis 250 Gramm schwer, im Zeitraum der Untersuchungen, die in der vierten mit sechsten Woche nach Sensibilisierung stattfanden, wogen sie zwischen 300 und 400 Gramm.

2.2. Sensibilisierung¹⁾

Alle Tiere wurden mit Ovalbumin "Grad III" (Sigma) sensibilisiert. Dafür wurden je 100 Milligramm in 0,4 Milliliter physiologischer Kochsalzlösung suspendiert, und diese Dosis jeweils intraperitoneal und intramuskulär injiziert. Alle Versuche begannen nach dreiwöchiger Inkubationszeit.

1) Die Sensibilisierung induziert die Bildung spezifischer Antikörper, die bei der Exposition mit dem entsprechenden Antigen zu einem späteren Zeitpunkt eine allergische Reaktion vom Typ I (Anaphylaxie) verursachen. Auf Inhalation vernebelter Histaminlösung reagieren Meerschweinchen vor der Sensibilisierung ebenso stark wie 21 Tage nach Sensibilisierung mit Ovalbumin. Vorbehandlung mit Indomethacin senkt die Schwellendosis für Histamin nach Sensibilisierung, nicht jedoch vorher (7). Außerdem gibt es Hinweise dafür, daß Histamin die Produktion von bronchokonstriktorischem Thromboxan A₂ in den Lungen sensibilisierter Tiere weit stärker anregt, als in normalen Tieren (6). Auch die Bildung von bronchokonstriktorischem Prostaglandin F_{2a} wird durch Sensibilisierung verstärkt (61). Um daraus entstehende Variable zu vermeiden und um unsere Ergebnisse mit denen von Dorsch und Frey vergleichen zu können, wurden auch diejenigen Tiere sensibilisiert, die ausschließlich mit

2.3. Inhalative Testung

2.3.1. Inhalationstechnik

Histamin bzw. Ovalbumin wurde in physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Ein Milliliter der Testlösung wurde mittels Ultraschallvernebler (Heyer USE 77) zerstäubt und in einen luftleeren Sack von 10 Litern Volumen geblasen, aus dem die Tiere dann - falls im Text nicht anders beschrieben - 30 Sekunden lang atmeten.

Die Konzentration der Histaminlösung war der individuellen Empfindlichkeit des Tieres angepaßt. Sie betrug im Durchschnitt 0,25 %, schwankte jedoch von Tier zu Tier zwischen 0,05 % und 0,5 %. Es wurde die Dosis gewählt, die bei der ersten Inhalation eine mittelgradige Bronchialobstruktion, entsprechend einem Kompressionsvolumen von 0,15 bis 0,25 Millilitern hervorrief. Grundsätzlich verwendeten wir zunächst eine 0,25%ige Histaminlösung. Lag die Reaktion darauf im gewünschten Bereich, was bei der Mehrzahl der Tiere der Fall war, fuhren wir mit dem Experiment fort. Reagierte das Tier stärker oder schwächer, ließen wir, je nach Ausmaß der Reaktion, nach 10 Minuten eine Lösung inhalieren, die um 0,05 % oder 0,1 % schwächer bzw. stärker konzentriert war, als die ursprüngliche. Dies wiederholten wir, soweit nötig, in zehnminütigen Abständen, und zwar so lange, bis eine Lösungskonzentration ermittelt war, auf die das Tier in gewünschtem Ausmaß reagierte. Darauf wurden die Meerschweinchen zwei Tage lang nicht getestet; das eigentliche Experiment wurde am vierten Tag mit einer Histaminlösung der dem jeweiligen Tier zuträglichen Stärke durchgeführt.

Da die individuelle Reaktionsbereitschaft der Tiere auf Ovalbumin bei weitem nicht so stark streut wie auf Histamin, verwendeten wir Ovalbuminlösungen, deren Konzentration je nach Versuch grundsätzlich 1 % oder 5 % betrug.

2.3.2. Kurzfristige Intervallinhalation

Die Tiere wurden insgesamt fünfmal und zwar zum Zeitpunkt 0, 10, 20, 60 und 70 Minuten jeweils 30 Sekunden lang der Versuchslösung ausgesetzt. Danach wurden sie für weitere Untersuchungen mindestens zwei Tage nicht verwendet. Nur bei der Testung mit Ovalbumin nach Histaminrezeptorenblockade inhalierten die Tiere lediglich zweimal und zwar 150 Sekunden lang bei der ersten und 210 Sekunden lang bei der zweiten Inhalation. Die Stärke der Bronchialobstruktion wurde in diesem Versuch 1, 2, 4, 6 und 8 Minuten nach Ende der ersten Inhalation, sowie 1, 2, 4, 6, 8 und 15 Minuten nach Ende der zweiten Inhalation gemessen. In den Experimenten mit Histamin lasen wir die Reaktionsstärke 60, 75, 90 Sekunden, 2, 3 und 5 Minuten nach Beginn jeder Inhalation ab.

2.3.3. Langfristig wiederholte Inhalation

Im Gegensatz zu den Experimenten mit kurzfristiger Intervallinhalation wurden die Tiere bei diesen Versuchen an acht bis zehn aufeinanderfolgenden Tagen und nach zwei- bzw. fünftägiger Pause nochmals ein bis vier Tage lang getestet. Für die Dauer des Versuches inhalierten sie jeweils einmal täglich eine Ovalbumin- bzw. Histaminlösung. Falls im Text nicht anders angegeben, betrug die Inhalationsdauer 30 Sekunden. Die Registrierung der Reaktionen erfolgte bei den Versuchen mit Ovalbumin 2, 4, 6 und 8 Minuten nach Beginn der Inhalation, bei den Experimenten mit Histamin wie unter 2.3.2. beschrieben, 60, 75, 90 Sekunden, 2, 3 und 5 Minuten nach Beginn der Inhalation.

2.4. Pharmaka

Ovalbumin "Grad III" (Sigma) wurde zur Sensibilisierung, sowie zur inhalativen Testung in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert. Die Histaminlösungen wurden mit physiologischer Kochsalzlösung und Histamindihydrochlorid "reinst. > 99 %" (Serva) hergestellt.

Zwei antiinflammatorisch wirkende Substanzen wurden uns freundlicherweise von den Herstellern überlassen: der Radikalfänger MK 447 (2-Amino-methyl-4-t-butyl-6-iodophenol) von MSD Sharpe & Dohme, sowie der Thromboxansyntheseinhibitor SQ 80,338 (1- (3-Phenyl-2-propenyl)-1-H-imidazol) von Squibb Research, Fa. Heyden, Regensburg.

Als Cyclooxygenaseinhibitoren verwendeten wir Acetylsalicylsäure (Bayer) und Indomethacin (Serva), als Histaminantagonisten den H1-Rezeptorenblocker Clemastine

(Tavegil^R, Sandoz), sowie den H₂-Rezeptorenblocker Cimetidine (Tagamet^R, Smith-Kline & French), die beide im Handel erhältlich sind.

2.5. Statistik

Im Text sowie auf allen Abbildungen sind Mittelwert und einfache Standardabweichung der jeweiligen Kompressionsvolumina aufgeführt. Zur Signifikanzberechnung wurde der t-Test für ungepaarte Daten nach Student benutzt; als signifikant wurden Unterschiede auf einem Signifikanzniveau von $p < 0,01$ betrachtet. Für die Versuche mit langfristig wiederholter Inhalation wurden nur Mittelwert und einfache Standardabweichung der Reaktionen, jedoch keine Signifikanzen berechnet, da die Kollektive wegen teilweise unterschiedlicher Inhalationsdauer nur bedingt vergleichbar sind. Auf Abbildung 1 ist der Normbereich des Kompressionsvolumens ($\bar{x} \pm 2s$) von 70 Kontrolltieren der gleichen Gewichtsklasse durch Schraffierung gekennzeichnet.

2.6. Lungenfunktion

Die verwendete Methodik wurde bereits ausführlich beschrieben (58). Sie basiert auf der Ganzkörperplethysmographie und benutzt als Maß für die Stärke der Bronchialobstruktion den Volumenbetrag, um den intrathorakales Gasvolumen zur Überwindung eines erhöhten Atemwegswiderstandes komprimiert werden muß (Kompressionsvolumen). Die Methode erlaubt wiederholte inhalative Testungen am intakten, nicht narkotisierten Labortier.

2.7. Experimentelle Planung

2.7.1. Versuche mit kurzfristiger Intervallinhalation

2.7.1.1. Histamin ohne Vorbehandlung

Acht unbehandelte, sensibilisierte Meerschweinchen inhalierten, wie unter 2.3.2. beschrieben, zum Zeitpunkt 0, 10, 20, 60 und 70 Minuten je 30 Sekunden lang eine Histaminlösung.

2.7.1.2. Histamin nach Histaminrezeptorenblocker

Sieben Tiere wurden gemäß eines Zufallsprotokolls in zwei Gruppen eingeteilt und entsprechend mit Clemastine (0,12 mg/kg Körpergewicht, $n = 3$) oder mit Clemastine und Cimetidine (0,12 mg/kg und 10 mg/kg Körpergewicht, $n = 4$) vorbehandelt. Die erste Inhalation begann zehn Minuten nach intraperitonealer Applikation der Medikamente. Drei Tage später wurden die Versuche an den selben Tieren wiederholt, wobei die Vorbehandlung vertauscht war, sodaß die Tiere, die zuerst den H1-Rezeptorenblocker erhalten hatten, nun mit der Kombination aus H1- und H2-Rezeptorenblocker behandelt wurden und umgekehrt.

2.7.1.3. Ovalbumin nach Histaminrezeptorenblocker

Das gleiche Cross-Over-Protokoll wurde bei sechs weiteren Tieren angewandt, die zunächst entweder mit Clemastine (0,12 mg/kg) oder mit Clemastine und Cimetidine (0,12 mg/kg und 3 mg/kg Körpergewicht, n = 3) und drei Tage später jeweils umgekehrt behandelt wurden. Sie inhalierten, dem experimentellen Aufbau von Waldherr (58) folgend, zehn Minuten nach i.p. Applikation der Medikamente 150 Sekunden lang eine 5%ige Ovalbuminlösung. Zehn Minuten nach Ende der ersten Inhalation wurden sie einer gleichstarken Lösung 210 Sekunden lang ausgesetzt.

2.7.1.4. Histamin nach Acetylsalicylsäure (ASS)

Die ASS wurde in Wasser suspendiert und den Tieren (n = 9) mittels Ösophaguskatheter zwei Stunden vor Inhalationsbeginn in einer Dosis von 10 mg/kg Körpergewicht peroral verabreicht.

2.7.1.5. Histamin nach SQ 80, 338

Acht Tiere wurden mit dem Imidazolderivat SQ 80, 338 vorbehandelt. Wegen seiner kurzen Halbwertszeit wurde das Präparat jeweils vier Minuten vor jeder Inhalation und in der Pause zwischen den Inhalationen 3 und 4 zu den Zeitpunkten 26, 36 und 46 Minuten intraperitoneal injiziert. Die Dosis betrug 10 mg/kg Körpergewicht.

2.7.1.6. Histamin nach MK 447

Acht weiteren Tieren wurden zwei Stunden vor Beginn der ersten Inhalation das Phenolderivat MK 447 in einer Dosis von 10 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal verabreicht.

Tabelle 1: Übersicht der Experimente mit kurzfristiger Intervallinhalation

Inhalations- lösung	Hista- min	Hista- min	Oval- bumin	Hista- min	Hista- min	Hista- min
Vorbehandlung	keine	H1- bzw. H1- und H2-Rezeptoren-blocker	H1- bzw. H1- und H2-Rezeptoren-blocker	ASS	SQ 80, 338	MK 447
Anzahl der Versuchstiere	8	7	6	9	8	8
Anzahl der Inhalationen	5	5	2	5	5	5

2.7.2. Versuche mit langfristig wiederholter Inhalation

2.7.2.1. Ovalbumin ohne Vorbehandlung

Eine Gruppe unbehandelter sensibilisierter Meerschweinchen (n = 7) inhalierte an zehn aufeinanderfolgenden Tagen jeweils einmal täglich 30 Sekunden lang eine 1%ige Ovalbuminlösung. Nach zweitägiger Pause wurden die Tiere am 13. Tag nochmals inhalativ getestet.

2.7.2.2. Ovalbumin nach Indomethacin

Sechs Tiere erhielten jeweils zwei Stunden vor Inhalationsbeginn 10 mg/kg Körpergewicht Indomethacin. Das Medikament wurde in etwa 30 Mikrolitern absolutem Äthanol gelöst, mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung (pH 7.35) verdünnt und intraperitoneal appliziert. Das Kollektiv wurde an acht aufeinanderfolgenden Tagen und nach zweitägiger Pause nochmals am elften Tag mit einer 1%igen Ovalbuminlösung getestet. Im Gegensatz zur Kontrollgruppe betrug die Inhalationsdauer nur 15 Sekunden, da wir in Vorversuchen festgestellt hatten, daß die Tiere nach Behandlung mit Indomethacin auf eine 30 Sekunden dauernde Ovalbuminprovokation mit schweren, teilweise tödlichen Bronchialobstruktionen reagieren.

2.7.2.3. Ovalbumin nach ASS

Zwölf Tiere erhielten zwei Stunden vor der Inhalation von 1%iger Ovalbuminlösung in Wasser suspendierte Acetylsalicylsäure (10 mg/kg Körpergewicht) mittels Ösophaguskatheter peroral verabreicht. Sie wurden neun Tage lang einmal täglich getestet und dann in zwei Gruppen geteilt. Dazu wurden die Tiere entsprechend der Stärke ihrer bronchialobstruktiven Reaktion am ersten Versuchstag derart gruppiert, daß einem stark reagierenden Tier in Gruppe 1 ein stark reagierendes Tier in Gruppe 2 gegenüberstand usw. Dadurch befanden sich in beiden Gruppen Tiere mit unterschiedlichen initialen Reaktionsstärken. Gruppe 1 (n = 6) wurde nach zweitägiger Pause am zwölften Tag, Gruppe 2 (n = 6) nach fünftägiger Pause am 15. und 16. Tag nochmals getestet.

2.7.2.4. Histamin ohne Vorbehandlung

Elf sensibilisierte Meerschweinchen wurden neun Tage lang ohne Vorbehandlung einmal täglich mit Histamin inhalativ getestet. Da wir eine weite Streuung der Reaktionsstärken erreichen wollten, verwendeten wir grundsätzlich 0,15%ige und bei drei Tieren, die darauf nicht reagierten, eine 0,20%ige Histaminlösung. Nach einer Pause von zwei Tagen wurden die Tiere nochmals vier Tage lang getestet (Tag 12 mit 15), wobei sie an den Tagen 13 mit 15 zwei Stunden vor Histamininhalation 10 mg/kg Körpergewicht ASS erhielten, die wir, in Wasser suspendiert mittels Ösophaguskatheter peroral verabreichten.

(Übersicht Versuchsaufbau und Ergebnisse der Langzeitversuche siehe Tabelle 2, S. 27 der Arbeit.)

3. ERGEBNISSE

3.1. Versuche mit kurzfristiger Intervallinhalation

3.1.1. Histamin ohne Vorbehandlung

Die wiederholte inhalative Provokation mit Histamin verursachte bei Meerschweinchen ein völlig anderes Reaktionsmuster als die Provokation mit Ovalbumin (Abb. 1). Auf die kurzfristige Intervallinhalation von Ovalbumin reagierten die Tiere ($n = 15$) zum Zeitpunkt 0, 10 und 20 Minuten mit mittelstarken, im Ausmaß etwa gleichbleibenden Bronchialobstruktionen (maximale Kompressionsvolumina (KV) nach Inhalation 1, 2 und 3: $0,25 \text{ ml} \pm 0,07 \text{ ml}$, $0,23 \text{ ml} \pm 0,06 \text{ ml}$, $0,25 \text{ ml} \pm 0,06 \text{ ml}$), zeigten aber auf die vierte und fünfte Inhalation nur sehr schwache Reaktionen (KV $0,12 \text{ ml} \pm 0,03 \text{ ml}$) (13). Die Provokation mit Histamin ($n = 8$) rief bei der ersten Inhalation eine Bronchialobstruktion hervor, die mit der auf Ovalbumin vergleichbar ist (KV $0,23 \text{ ml} \pm 0,12 \text{ ml}$). Die nachfolgenden Inhalationen bewirkten jedoch immer stärkere Reaktionen (KV nach Inhalation 2 und 3: $0,27 \text{ ml} \pm 0,18 \text{ ml}$ und $0,38 \text{ ml} \pm 0,16 \text{ ml}$). Insbesondere ist nach den Inhalationen 4 und 5 kein Rückgang, sondern eine weitere Verstärkung der Bronchialobstruktion zu beobachten (KV $0,38 \text{ ml} \pm 0,13 \text{ ml}$ und $0,49 \text{ ml} \pm 0,16 \text{ ml}$), wobei die Unterschiede zur Ovalbumininhalation statistisch signifikant sind ($p < 0,001$).

Ein weiterer Unterschied liegt im zeitlichen Ablauf der Reaktionen. Nach inhalativer Provokation mit Ovalbumin beginnt die bronchiale Obstruktion

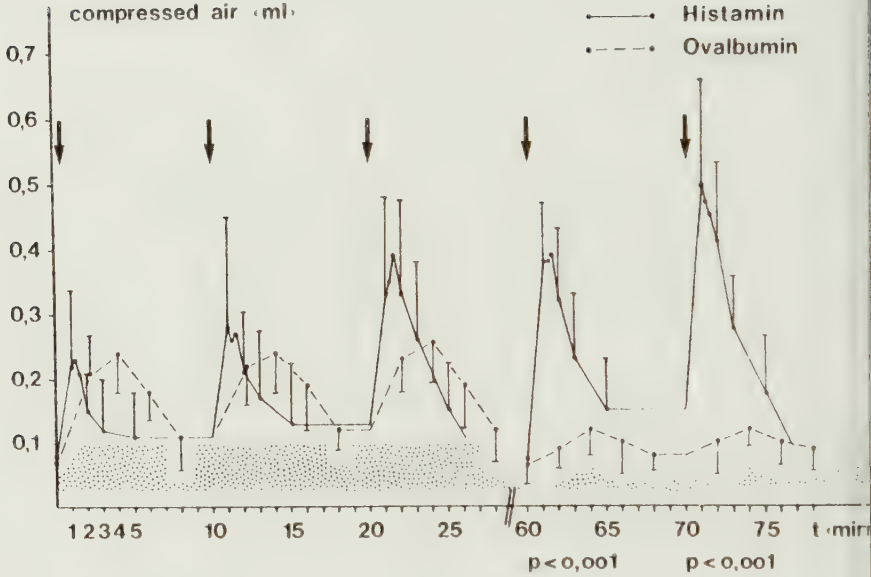


Abbildung 1: Kurzfristige Intervallinhalation mit Histamin ($n = 8$) und Ovalbumin ($n = 15$) bei sensibilisierten Meerschweinchen; der schraffierte Bereich entspricht der Normalverteilung des Kompressionsvolumens ($\bar{x} \pm 2s$, $n = 70$).

relativ langsam, erreicht nach vier Minuten einen Höhepunkt, um dann noch langsamer wieder abzufallen. Nach Inhalation von Histamin setzt die Reaktion beinahe schlagartig ein; die höchsten Werte werden zwischen 60 und 90 Sekunden nach Beginn der Inhalation gemessen. Danach nimmt die Bronchialobstruktion rasch wieder ab und ist nach fünf Minuten auf Werte gesunken, die nur wenig über dem Normbereich liegen.

Dies ist der Grund, warum wir bei den Experimenten mit Histamin die Reaktionen zu anderen Zeitpunkten ablesen, als bei den Ovalbuminversuchen (siehe 2.3.2.).

3.1.2. Histamin nach Histaminrezeptoren-blocker

Jeweils sieben Tiere wurden mit Clemastine (0,12 mg/kg Körpergewicht) bzw. einer Kombination aus Clemastine und Cimetidine (0,12 mg/kg und 10 mg/kg Körpergewicht) vorbehandelt. Beide Behandlungsweisen übten protektive Wirkung aus (Abb. 2 und 3). Die Konzentration der inhalierten Histaminlösung lag mit durchschnittlich 0,31 % bei den vorbehandelten Tieren um 0,06 % höher, als bei den unbehandelten. Trotzdem reagierten die behandelten Tiere auf Inhalation 1 mit 3 etwa gleich stark, auf Inhalation 4 und 5 deutlich schwächer, als die Kontrolltiere (KV nach Inhalation 4 und 5 bei Behandlung mit H1-Blocker: $0,24 \text{ ml} \pm 0,22 \text{ ml}$ und $0,30 \text{ ml} \pm 0,31 \text{ ml}$; bei Behandlung mit H1-H2-Blocker: $0,21 \text{ ml} \pm 0,18 \text{ ml}$ und $0,17 \text{ ml} \pm 0,21 \text{ ml}$). Der Unterschied der Reaktionsstärke zwischen dem mit H1-Blocker und dem mit kombinierter H1-H2-Blockade behandeltem Kollektiv war vor allem nach Inhalation 5 deutlich, aber statistisch nicht signifikant. Errechnet man jedoch den Un-

schied der einzelnen Gruppen zur Kontrollgruppe, ergibt sich Folgendes: die mit kombinierter H1-H2-Rezeptorenblockade behandelten Tiere reagierten auf Inhalation 4 und 5 signifikant schwächer, als die Kontrolltiere ($p < 0,01$ bzw. $0,001$) (Abb. 3). Der Rückgang der Bronchialobstruktion bei der mit H1-Blocker behandelten Gruppe war gegenüber der Kontrollgruppe nach Inhalation 4 nur auf niedrigerem Niveau ($p < 0,05$), nach Inhalation 5 gar nicht signifikant (Abb. 2).

3.1.3. Ovalbumin nach Histaminrezeptorenblocker

Der protektive Effekt der Behandlung mit Histaminantagonisten ist bei Allergenprovokation noch stärker ausgeprägt, als bei Histamininhalation. Nach Behandlung mit H1- bzw. H1-H2-Blockade reagierten die beiden Kollektive ($n = 6$) zwar ähnlich stark wie die Kontrollgruppe (KV durchschnittlich $0,20$ ml), doch während bei unbehandelten Tieren eine 1%ige Ovalbuminlösung ausreicht, um mittelstarke Bronchialobstruktionen hervorzurufen, verwendeten wir bei den mit Clemastine ($0,12$ mg/kg Körpergewicht) bzw. Clemastine und Cimetidine ($0,12$ mg/kg und 3 mg/kg Körpergewicht) behandelten Meerschweinchen eine 5%ige Lösung, um vergleichbare Reaktionen zu erzielen. Außerdem betrug die Inhalationsdauer nicht 30 Sekunden, 150 Sekunden bei Inhalation 1 und 210 Sekunden bei Inhalation 2. Zwischen den beiden Gruppen ließ sich bei der gewählten Dosierung der Medikamente kein Unterschied im Reaktionsverlauf feststellen (Abb. 4).

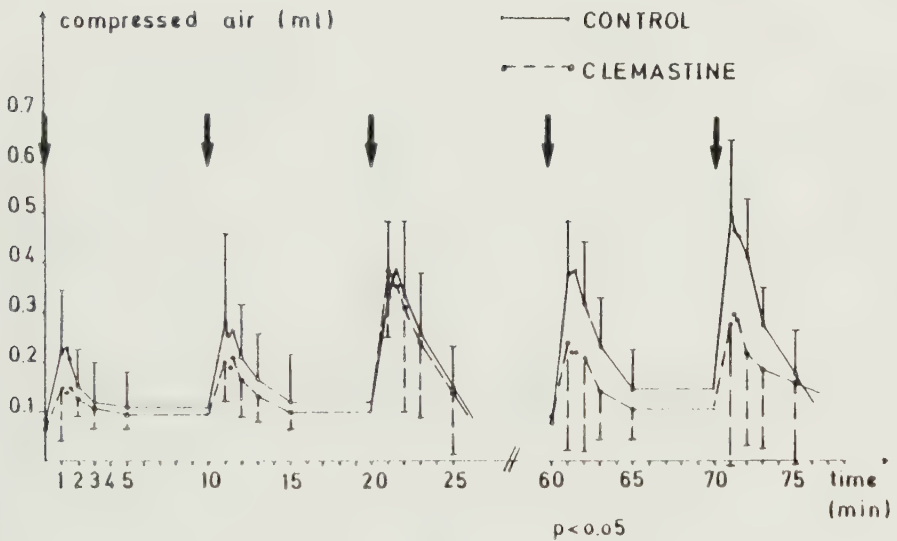


Abbildung 2: Kurzfristige Intervallinhalation mit Histamin ohne Vorbehandlung ($n = 8$) und nach Vorbehandlung mit dem H1-Rezeptorenblocker Clemastine (0,12 mg/kg Körpergewicht i.p. ($n = 7$)).

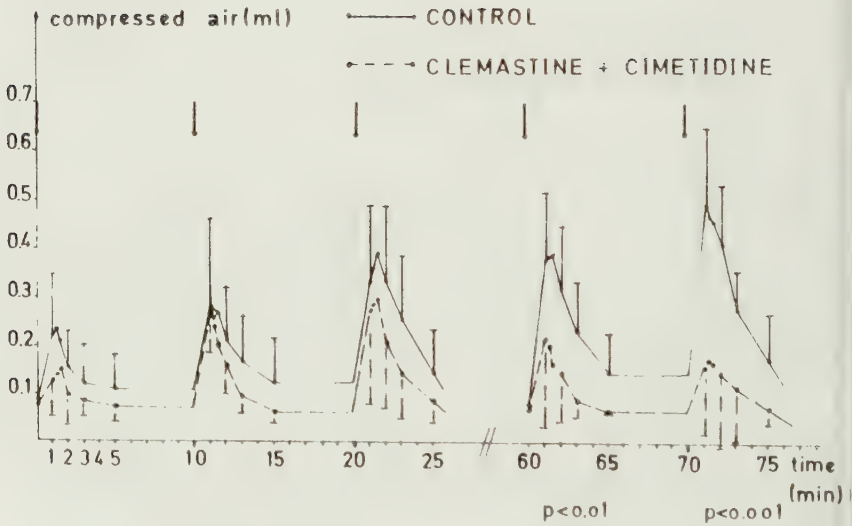


Abbildung 3: Kurzfristige Intervallinhalation mit Histamin ohne Vorbehandlung ($n = 8$) und nach Vorbehandlung mit den H₁- und H₂-Rezeptorenblockern Clemastine und Cimetidine (0,12 mg/kg bzw. 10 mg/kg Körpergewicht i.p. ($n = 7$)).

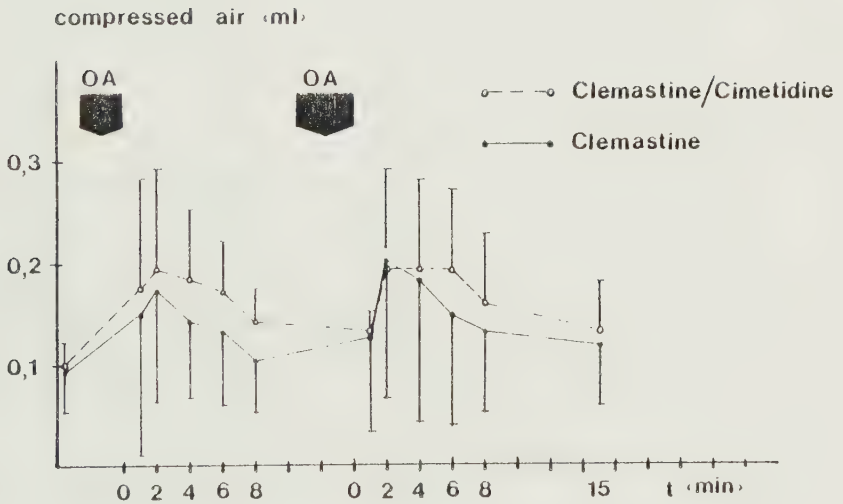


Abbildung 4: Kurzfristige Intervallinhalation mit Ovalbumin nach Vorbehandlung mit Clemastine (0,12 mg/kg Körpergewicht i.p.) bzw. einer Kombination aus Clemastine und Cimetidine (0,12 mg/kg und 3 mg/kg Körpergewicht i.p. (n = 6)).

3.1.4. Histamin nach Acetylsalicylsäure (ASS)

Neun Meerschweinchen wurden mit 10 mg/kg Körpergewicht Acetylsalicylsäure vorbehandelt. Die Reaktion auf Inhalation 1 war mit der Kontrollgruppe vergleichbar (Abb. 5). Die Bronchialobstruktion nach Inhalation 2 und 3 war jedoch doppelt so stark wie bei den unbehandelten Tieren (KV $0,60 \text{ ml} \pm 0,23 \text{ ml}$ und $0,70 \pm 0,21 \text{ ml}$; Signifikanz $p < 0,01$ bzw. $0,005$). Auch die Reaktionen auf Inhalation 4 und 5 waren deutlich stärker (KV $0,53 \pm 0,31 \text{ ml}$ und $0,70 \text{ ml} \pm 0,29 \text{ ml}$), als die der Kontrollgruppe, doch war der Unterschied statistisch nicht signifikant.

Wir stießen bei diesen Versuchen auf die Grenze des Testbaren, da Kompressionsvolumina von mehr als 0,60 bis 0,70 Millilitern bei Meerschweinchen dieser Größe mit dem Leben kaum mehr vereinbar sind. Die Reaktionen auf Inhalation 2 mit 5 können also als maximal angesehen werden, unabhängig davon, ob sie im statistischen Sinne signifikant stärker sind als die der Kontrollgruppe.

3.1.5. Histamin nach SQ 80, 338

Nach Vorbehandlung von acht Tieren mit 10 mg/kg Körpergewicht des Imidazolderivates SQ 80, 338 ergab sich folgendes Bild: Die ersten drei Histaminprovokationen riefen annähernd gleiche Reaktionen hervor wie bei den unbehandelten Tieren. Die Reaktionen auf Inhalation 4 und 5 fielen signifikant schwächer aus, als die der Kontrollgruppe ($p < 0,001$). (Abb. 6)

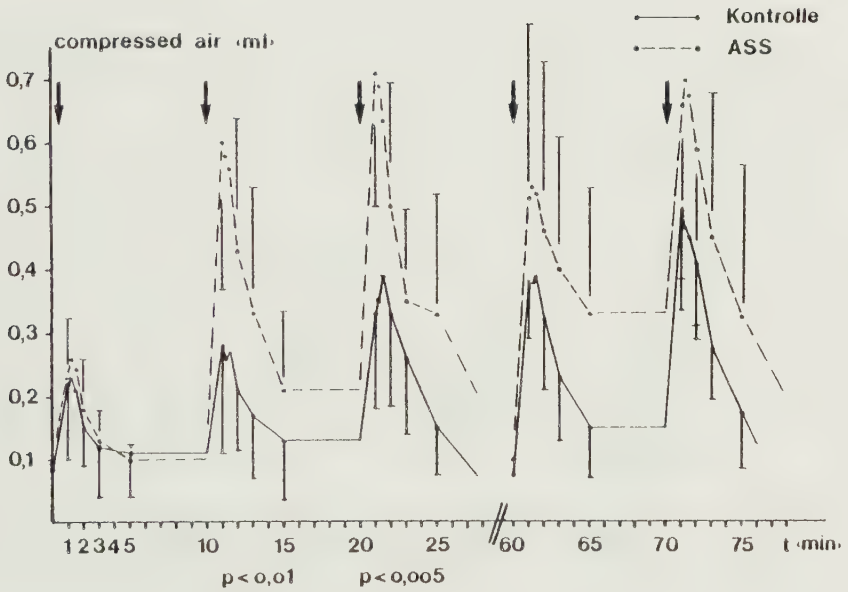


Abbildung 5: Kurzfristige Intervallinhalation mit Histamin ohne Vorbehandlung ($n = 8$) und nach Vorbehandlung mit Acetylsalicylsäure (10 mg/kg Körpergewicht p.o. ($n = 9$)).

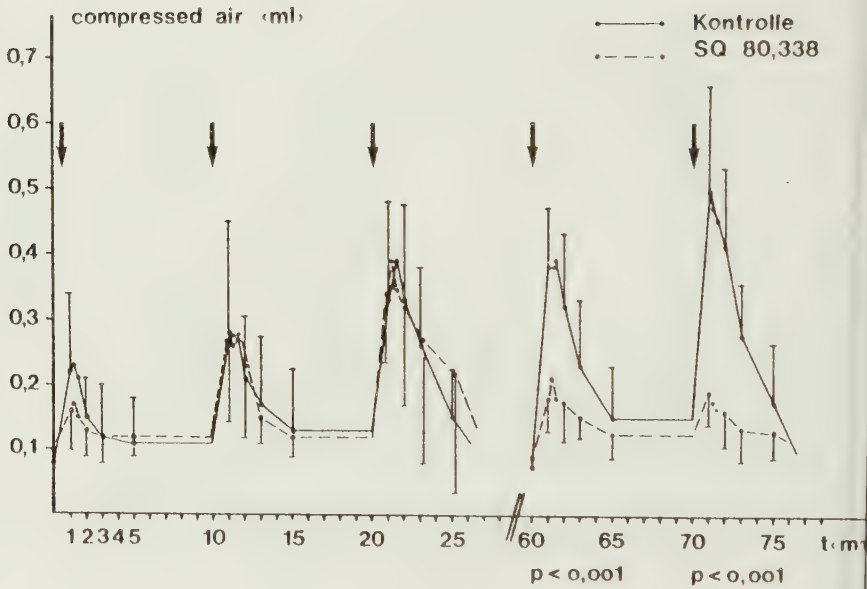


Abbildung 6: Kurzfristige Intervallinhalation mit Histamin ohne Vorbehandlung (n = 8) und nach Vorbehandlung mit SQ 80,338 (10 mg/kg Körpergewicht i.p. alle 10 Minuten (n = 8)).

3.1.6. Histamin nach MK 447

Nach intraperitonealer Applikation von 10 mg/kg Körpergewicht des Radikalfängers MK 447 bei acht Tieren nahm die Reaktionskurve den in Abbildung 7 gezeigten Verlauf. Auf Inhalation 1 mit 3 gab es keine wesentlichen Unterschiede in der Reaktionsstärke, verglichen mit dem unbehandelten Kollektiv. Nach Inhalation 4 und 5 beobachteten wir eine deutliche und statistisch signifikante Abschwächung ($p < 0,001$) der Bronchialobstruktion. Die Reaktionen lagen allerdings über dem Normbereich (KV 0,03 ml bis 0,10 ml) und waren, obwohl statistisch nicht signifikant, höher als diejenigen, die auf die 4. und 5. Ovalbumininhalation beobachtet wurden (KV nach Inhalation 4 und 5 bei Behandlung mit MK 447: $0,18 \text{ ml} \pm 0,06 \text{ ml}$ und $0,23 \text{ ml} \pm 0,11 \text{ ml}$).

3.2. Versuche mit langfristig wiederholter Inhalation

3.2.1. Ovalbumin ohne Vorbehandlung

Die unbehandelte Gruppe, die mit Ovalbumin getestet wurde ($n = 7$), reagierte am ersten Tag im Durchschnitt mit starken Bronchialobstruktionen (Kompressionsvolumen KV $0,3 \text{ ml} \pm 0,17 \text{ ml}$). An den Tagen 2, 3 und 4 waren die Reaktionen auf Allergenexposition nur mittelstark (KV $0,18 \pm 0,10 \text{ ml}$, $0,17 \text{ ml} \pm 0,12 \text{ ml}$, $0,20 \text{ ml} \pm 0,17 \text{ ml}$), am Tag 5 erreichten sie wieder die Stärke des ersten Tages (KV $0,30 \text{ ml} \pm 0,31 \text{ ml}$). Am Tag 6 kam es zu einem erneuten und endgültigen Abfall der Reaktionsstärken, so daß wir an den Tagen 7 mit 10 Kompressionsvolumina maßen, die nur wenig über den Kontrollwerten lagen (KV 0,12 ml bis 0,13 ml). Nach zweitägiger Inha-

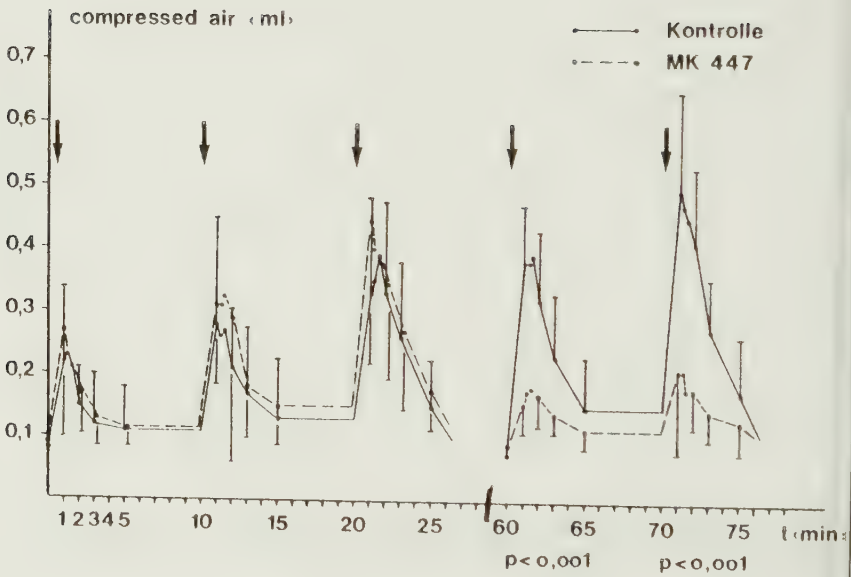


Abbildung 7: Kurzfristige Intervallinhalation mit Histamin ohne Vorbehandlung (n = 8) und nach Vorbehandlung mit MK 447 (10 mg/kg Körpergewicht i.p. (n = 8)).

lationspause waren die Meerschweinchen noch immer weitgehend reaktiv gegen Ovalbumin. Das durchschnittliche KV betrug $0,12 \text{ ml} \pm 0,03 \text{ ml}$ (siehe Tabelle 2). Die beschriebene Tendenz der abfallenden und wiederanstiegenden Reaktionsstärke zeigt sich in der graphischen Darstellung als Senke (Abb. 8). Diese Tendenz wird insofern eingeschränkt, als besonders am Tag 5, aber auch an den Tagen 4 und 6 die Stärke der Reaktionen sehr weit schwankte, wie aus der Höhe der Standardabweichungen ersichtlich ist. Tiere mit ursprünglich mittelstarker Bronchialobstruktion (KV etwa $0,25 \text{ ml}$) reagierten am Tag 5 zum Teil nur noch schwach (KV $< 0,15 \text{ ml}$), während zwei Tiere mit anfänglich starker Reaktion (KV etwa $0,35 \text{ ml}$) an diesem Tag noch stärkere Bronchialobstruktionen erlitten. (KV $> 0,40 \text{ ml}$). Ohne Einschränkung gilt die Aussage vom endgültigen Reaktionsabfall. Ab Tag 7 zeigten die Tiere ausnahmslos wesentlich schwächere Reaktionen, als am Tag 1.

3.2.2. Ovalbumin nach Indomethacin

Die Vorbehandlung mit 10 mg/kg Körpergewicht Indomethacin erhöhte die Sensibilität der Meerschweinchen ($n = 6$) auf Ovalbumin deutlich: in Vorversuchen waren einige mit Indomethacin behandelte Tiere nach einer 30 Sekunden dauernden Ovalbumininhalation an asthmatischen Reaktionen gestorben, weshalb wir beim eigentlichen Experiment die Inhalationsdauer von 30 auf 15 Sekunden reduzierten. Dadurch erhielten wir am Tag 1 eine durchschnittliche Reaktionsstärke, die mit der der Kontrollgruppe vergleichbar war (KV $0,29 \pm 0,12 \text{ ml}$).

Der Verlauf der Reaktionsstärke mit anfänglichem Rückgang (Tag 2 mit 4), Wiederanstieg (Tag 5) und endgültigem Abfall (Tag 6 mit 8 und Tag 11) war dem der Kontrollgruppe ähnlich (Abb. 8). Die absolute Stärke der Reaktionen an den einzelnen Tagen war ebenfalls mit der Kontrollgruppe vergleichbar, streute aber weniger weit (Tab. 2). Vorbehandlung mit Indomethacin verhinderte demnach nicht, daß die Tiere auf langfristig wiederholte Inhalation von Ovalbumin refraktär wurden.

3.2.3. Ovalbumin nach Acetylsalicylsäure (ASS)

Acetylsalicylsäure (10 mg/kg Körpergewicht) erhöhte die Empfindlichkeit sensibilisierter Meerschweinchen ($n = 12$) auf Ovalbumin nicht. Am Tag 1 betrug das durchschnittliche KV nach 30 Sekunden $0,24 \text{ ml} \pm 0,13$ ml. Die Reaktionsstärke fiel am Tag 2 deutlich ab (KV $0,14 \pm 0,08$ ml) und lag dann sieben Tage lang im oberen Normbereich (KV 0,08 ml bis 0,09 ml). Ein vorübergehender Wiederanstieg der Reaktionsstärke wie in den beiden anderen Gruppen wurde nicht beobachtet. Die Tiere blieben auch nach zweitägiger Pause gegen Ovalbumin refraktär. Am Tag 12 reagierten von sechs getesteten Tieren drei sehr schwach, drei überhaupt nicht auf die Ovalbumininhalation (KV $0,09 \text{ ml} \pm 0,03$ ml). Die Gruppe ($n = 6$), die fünf Tage lang nicht getestet worden war, zeigte am Tag 15 mittelstarke Bronchialobstruktionen (KV $0,18 \pm 0,05$ ml), am Tag 16 nur noch schwache Reaktionen (KV $0,12 \text{ ml} \pm 0,05$ ml).

Tag	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
OA 1% ohne Vor-																
behandlung	0,30	0,18	0,17	0,21	0,30	0,17	0,13	0,13	0,12	0,13	-	-	0,11			
Anzahl der Tiere																
n = 7	± 0,17	± 0,10	± 0,13	± 0,17	± 0,31	± 0,14	± 0,07	± 0,03	± 0,02	± 0,03			± 0,03			
Dauer der Inhalation																
di = 30"																
OA 1% nach																
Indomethacin	0,29	0,16	0,20	0,19	0,28	0,21	0,10	0,10	-	-	0,11					
n = 6,																
di = 15"	± 0,12	± 0,04	± 0,10	± 0,10	± 0,22	± 0,07	± 0	± 0,03			± 0,03					
OA 1% nach ASS																
n = 12,	0,24	0,14	0,09	0,09	0,09	0,08	0,08	0,09	0,09	-	-	0,09	-	-	0,18	0,12
di = 30"	± 0,13	± 0,08	± 0,03	± 0,03	± 0,02	± 0,02	± 0,02	± 0,04	± 0,02			± 0,03			± 0,05	± 0,05
Histamin ohne																
Vorbehandlung	0,22	0,13	0,18	0,25	0,18	0,14	0,16	0,18	0,12	-	-	0,14	0,15	0,18	0,13	
n = 11,																
di = 30"	± 0,14	± 0,09	± 0,18	± 0,18	± 0,20	± 0,15	± 0,16	± 0,22	± 0,07			± 0,15	± 0,15	± 0,15	± 0,07	
												± 0,03	nach ASS	nach ASS	nach ASS	ASS

Tabelle 2: Experimentelle Planung und Ergebnisse der Langzeitversuche
(angegeben sind Mittelwert und einfache Standardabweichung
des Kompressionsvolumens in Milliliter)

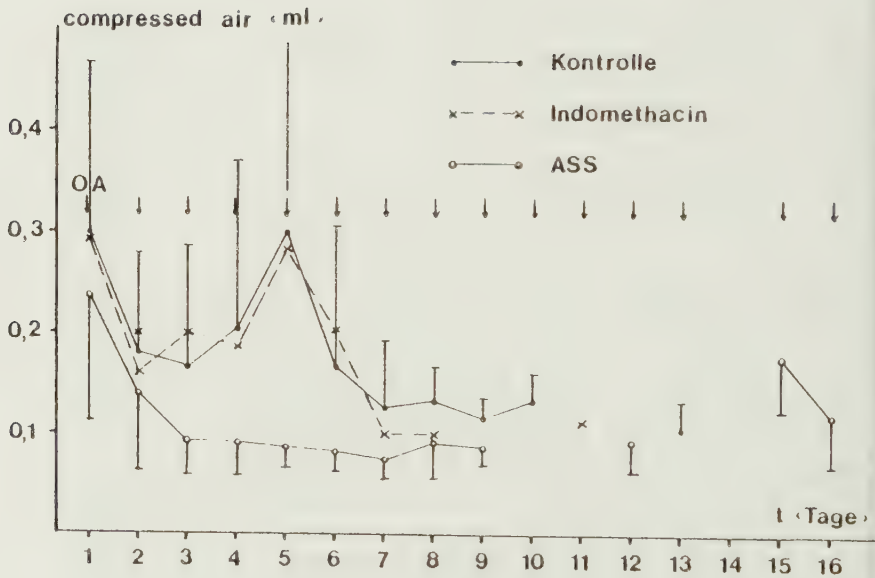


Abbildung 8: Langfristig wiederholte Inhalation mit Ovalbumin ohne Vorbehandlung (n = 7) sowie nach Vorbehandlung mit Indomethacin (10 mg/kg Körpergewicht i.p. (n = 6) bzw. Acetylsalicylsäure (10 mg/kg Körpergewicht p.o. (n = 12).

3.2.4. Histamin ohne Vorbehandlung

Die Ergebnisse der täglich wiederholten einmaligen Histamininhalation streuen so breit, daß sie statistisch kaum faßbar sind. Es zeigte sich lediglich, daß 10 von 11 Tieren im Laufe des Versuchs nahezu oder vollständig refraktär wurden. Der Abfall der Reaktionsstärke ereignete sich bei fünf Tieren am Tag 2, bei vier Tieren am Tag 5, bei einem Tier am Tag 9. Sieben von 11 Tieren blieben nach zweitägiger Inhalationspause refraktär. Die Behandlung mit ASS beeinflusste diese Ergebnisse nicht. Bei den vier anderen Tieren läßt die Stärke der Bronchialobstruktion an den Tagen 12 mit 15 keine Regelmäßigkeit erkennen.

4. DISKUSSION

4.1. Versuche mit kurzfristiger Intervallinhalation

In vitro führt die wiederholte Histaminexposition von isolierten Trachealmuskelstreifen des Hundes zu immer schwächeren Kontraktionen (4). Dieses Phänomen der "zunehmenden Wirkungsminderung eines Pharmakons bei mehrfacher Applikation in kurzen Zeitabständen" bezeichnet man als Tachyphylaxie (46). In dem genannten Modell wird die Entwicklung der Tachyphylaxie durch den Prostaglandinsyntheseinhibitor Indomethacin verhindert, durch die Zugabe von exogenem Prostaglandin E2 wieder hergestellt (4). Gleichzeitig mit dem Erlahmen der histamininduzierten Kontraktionen steigt die Prostaglandin E2-Biosynthese der Bronchialmuskulatur (5). Ähnliche Beobachtungen an Trachealstreifen von Primaten (33) erhärten die Hypothese, daß die Tachyphylaxie auf Histamin in vitro durch Prostaglandin E2 vermittelt wird.

In vivo wurde bei sensibilisierten Meerschweinchen eine Tachyphylaxie auf kurzfristig wiederholte Inhalationen des Allergens Ovalbumin beschrieben. Die Tachyphylaxie ist wahrscheinlich durch eine gesteigerte endogene Produktion von Prostaglandin E2 bedingt (11, 12).

Wir untersuchten die Frage, ob sich eine Tachyphylaxie auf Histamin in vivo nachweisen läßt. Wir fanden, daß Meerschweinchen auf kurzfristig wiederholte Inhalationen von Histamin mit Asthmaanfällen reagieren, die von Inhalation zu Inhalation stärker werden.

Unser Ergebnis steht im Widerspruch zu den oben erwähnten Befunden einer Tachyphylaxie auf wiederholte Histaminexposition. Deshalb vermuten wir, daß die in vitro gut dokumentierte Histamintachyphylaxie zwar auch in vivo stattfindet, jedoch durch sekundäre Prozesse überlagert ist. Als Grundlage dieser Sekundärprozesse sind verschiedene pathophysiologische Mechanismen denkbar: Zu diskutieren wäre erstens eine Kumulation des exogen zugeführten Histamins in den Atemwegen. Das Abklingen der asthmatischen Reaktionen nach jeder Inhalation sowie das lange Zeitintervall von 40 Minuten zwischen der dritten und vierten Inhalation sprechen gegen diese Erklärung. Zweitens könnte man annehmen, daß Histaminexposition zu einer Schädigung des Bronchialepithels führt, wodurch bei erneuter Zufuhr der Übertritt von Histamin erleichtert und dessen Wirkung verstärkt wird. Hintschich fand jedoch bei seinen Versuchen mit radioaktiv markiertem Zinn-DPTA-Aerosol keine Hinweise auf eine Permeabilitätsänderung der Epithelschranke nach wiederholter Histamininhalation (28). Wir vermuteten, daß die Sekundärprozesse auf der Wirkung sekundärer Entzündungsmediatoren beruhen. Um diese Hypothese zu überprüfen, untersuchten wir, wie der Reaktionsverlauf bei wiederholter Histamininhalation durch Pharmaka beeinflusst wird, die entweder die Biosynthese entsprechender Entzündungsmediatoren hemmen oder deren Rezeptoren blockieren. Bevor diese Versuche besprochen werden, soll auf zwei Nebenfunde eingegangen und ein Einwand entkräftet werden.

- Während bei der kurzfristigen Intervallinhalation von Ovalbumin die asthmatischen Reaktionen von Tier zu Tier beinahe gleich stark sind, schwankt die interindividuelle Empfindlichkeit gegenüber Histamin außerordentlich stark. Dieses Phänomen wurde wiederholt beschrieben (17, 54). Snapper postulierte als Ursache eine von Tier zu Tier schwankende Relation von Histamin-H₁- und H₂-Rezeptoren (52). Anderen Arbeiten zufolge wird die Histaminempfindlichkeit zumindest teilweise durch eine Balance zwischen cholinergen und betaadrenergen Stimuli gesteuert (16, 53).
- Die bronchiale Obstruktion nach Histaminexposition setzt viel rascher ein und bildet sich schneller zurück, als nach Ovalbumingabe. Dieser bekannte Vorgang beruht wohl auf der Tatsache, daß Histamin als primärer Mediator direkt an seinen Wirkort gelangt, während die Freisetzung verschiedener endogener Mediatoren durch Ovalbumin erst ausgelöst wird.
- Ein klinischer Befund scheint unseren Ergebnissen zu widersprechen. Ruffin berichtet über die wiederholte, inhalative Histamintestung von zwölf asthmatischen Patienten. Auf gleichbleibende Dosen Histamin beobachtete er konstante Reaktionen, d.h. es kam weder zu einer zunehmenden Empfindlichkeit, noch zur Entwicklung einer Tachyphylaxie (49). Die Intervalle zwischen den Inhalationen schwankten jedoch zwischen 30 und 120 Minuten, sodaß die Erholungsphasen wesentlich länger waren, als in unseren Versuchen. Außerdem standen alle Patienten unter antiasthmatischer Behandlung. Zwar wurde Salbutamol acht Stunden, Theophyllin zwölf Stunden vor Beginn der Experimente abgesetzt, doch inhalierten acht Probanden ohne Unterbrechung die gewohnte Dosis Beclomethason.

Wir nahmen an, daß die in vitro beschriebene Histamin-tachyphylaxie auch in vivo stattfindet, aber durch sekundäre Prozesse überlagert wird. Diese würden die beobachtete Zunahme der Reaktionsstärke auf wiederholte Histamingaben bewirken. Unsere Hypothese, daß diesen Sekundärprozessen Entzündungsmediatoren zugrunde liegen, versuchten wir mittels spezifischer Antagonisten zu überprüfen.

Zunächst untersuchten wir die Wirkung von Histaminrezeptorantagonisten. Wir fanden, daß sowohl die Vorbehandlung mit Histamin-H1-, als auch mit einer Kombination von Histamin-H1- und Histamin-H2-Rezeptorantagonisten die Steigerung der bronchialen Reaktionen auf wiederholte Histamininhalationen deutlich abschwächt. Diese Wirkung zeigt sich jedoch erst bei der 4. und 5. Histamininhalation (Zeitpunkte 60 und 70 Minuten), während die Reaktionen auf die ersten drei Inhalationen (Zeitpunkte 0, 10, 20 Minuten) im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe nicht beeinflusst werden. Eine kombinierte Vorbehandlung reduziert die Histaminempfindlichkeit stärker, als die alleinige Gabe des Histamin-H1-Antagonisten. Es besteht also in unserem Modell ein Synergismus der beiden Histaminrezeptorarten, das heißt, sowohl Histamin-H1 als auch Histamin-H2-Rezeptoren scheinen an der Vermittlung der bronchialen Obstruktion beteiligt zu sein.

Bei verschiedenen pathophysiologischen Vorgängen wie der Histaminfreisetzung in Bronchialsystem und basophilen Granulozyten (17, 34) sowie der Biosynthese von cyclo-Phosphaten und Prostaglandinen im Bronchialgewebe vermitteln H1- und H2-Rezeptoren gegensätzliche Histaminwirkungen (24, 37). Es gibt auch Befunde, die darauf hindeuten, daß Histamin-H2-Rezeptoren der

bronchialen Obstruktion entgegenwirken. So reagierten Meerschweinchen, die mit hohen Dosen des H₂-Rezeptorantagonisten Cimetidine behandelt wurden (28,8 mg/kg KG) auf Antigen- sowie Histaminexposition mit verstärkter bronchialer Obstruktion (18). Bei Hunden bewirkte die H₂-Blockade mit Cimetidine eine stark erhöhte pulmonale Reaktion auf inhaliertes Histamin (52).

Welche Mechanismen dem von uns beobachteten Synergismus zugrunde liegen, ist ungeklärt, doch gibt es zahlreiche Befunde, die dafür sprechen, daß Histamin-H₁ und H₂-Rezeptoren bei manchen pathophysiologischen Vorgängen synergistisch wirken. Beim allergen- und histamininduzierten Asthma des Hundes wird die bronchiale Hypersekretion durch eine Kombination von H₁- und H₂-Antagonisten völlig unterdrückt, während die alleinige Applikation von H₁- oder H₂-Antagonisten reduzierende, aber deutlich schwächere Wirkung zeigt (60). Bei ovalbumininduzierten asthmatischen Reaktionen des Meerschweinchens ist der synergistische Effekt von der Dosierung des H₂-Antagonisten abhängig. Mit einer Cimetidinedosierung von 30 mg/kg Körpergewicht reagierte die kombiniert behandelte Gruppe signifikant schwächer, als das mit H₁-Blocker vorbehandelte Kollektiv (58). Dagegen fanden wir bei einer Dosis von 3 mg/kg Körpergewicht Cimetidine keine Unterschiede in den Reaktionsstärken nach Vorbehandlung mit Clemastine (0,12 mg/kg KG) bzw. Clemastine und Cimetidine (0,12 mg/kg und 3 mg/kg KG). In vitro reagieren perfundierte Meerschweinchenlungen auf Allergenexposition mit der Freisetzung von Histamin. Diese wird durch eine Kombination von Clemastine und Cimetidine signifikant reduziert (15).

Beim Menschen können urtikarielle Reaktionen durch kombinierte H1-H2-Antagonistengabe wirksamer behandelt werden, als durch alleinige Verabreichung von H1- oder H2-Blockern (42). Histamin- und allergeninduzierte Sofortreaktionen der Haut beim Menschen werden durch Gabe eines H1-Antagonisten reduziert, durch H2-Antagonisten nicht beeinflusst. Eine Kombination von H1- und H2-Blockern reduziert die Sofortreaktionen stärker als der H1-Antagonist. Verblüffenderweise bringt die kombinierte Behandlung bei sechs von acht Patienten verzögerte Hautreaktionen zum Verschwinden, während die isolierte Gabe von H1- bzw. H2-Antagonisten wirkungslos bleibt (51). Nach intravenöser Applikation von Histamin reagieren asthmatische wie gesunde Versuchspersonen mit dosisabhängiger Steigerung von Pulsfrequenz, Hautrötung, Kopfschmerzen sowie Druckabfall. Alle Symptome werden durch kombinierte Gabe von Hydroxyzine (H1-Antagonist) und Cimetidine (H2-Antagonist) signifikant reduziert, während die alleinige Verabreichung von H1- oder H2-Blockern ohne Wirkung bleibt (30). In der Anästhesie findet die kombinierte Gabe von H1- und H2-Antagonisten bei der Behandlung von pseudoallergischen Reaktionen klinische Anwendung (35).

Arachidonsäureprodukte beeinflussen in komplexer Weise Intensität und Dauer asthmatischer Reaktionen (29). Wir suchten die von uns postulierten Entzündungsmediatoren, die möglicherweise eine Histamintachyphylaxie in vivo verhindern, unter anderem im Bereich der Arachidonsäureprodukte. Dazu wurden Pharmaka verwendet, die auf verschiedener Ebene in den Arachidonsäurekatabolismus eingreifen. Zum besseren Verständnis der weiteren Ausführungen soll dieser kurz erläutert werden: Aus Phospholipiden der Zellmembran wird durch Phospholipase A2 unter anderem Arachidonsäure (AA)

freigesetzt. Diese mehrfach ungesättigte Fettsäure wird auf zwei Wegen katabolisiert. Durch das Enzym Cyclooxygenase entstehen die Endoperoxide Prostaglandin G₂ (PGG₂) und Prostaglandin H₂ (PGH₂), aus diesen wiederum drei Gruppen von Substanzen: Prostacyclin (PGI₂), die Prostaglandine E₂, F₂ α und D₂ (PGE₂, PGF₂ α , PGD₂), sowie die Thromboxane A₂ und B₂ (TxA₂, TxB₂). Das Enzym Lipoxygenase baut AA zu 5-hydroperoxy-eicosa-tetra-enoischer Säure (5-HPETE) ab. Aus dieser entstehen 5-hydroxy-eicosa-tetra-enoische Säure (5-HETE), die Leukotriene A₄ und B₄ (LTA₄, LTB₄), sowie die Leukotriene C₄, D₄ und E₄ (LTC₄, LTD₄, LTE₄) (50, 59). Prostaglandine sind Gewebshormone, die über eigene Rezeptoren am Ort ihrer Synthese wirken und zum großen Teil dort abgebaut werden. Sie entfalten je nach Bildungsorgan vielfältige, zum Teil antagonistische Wirkungen (59), die im Folgenden besprochen werden.

Acetylsalicylsäure (ASS) acetyliert irreversibel das Enzym Cyclooxygenase (48) und hemmt dadurch die Synthese der Endoperoxide PGG₂ und PGH₂, der Prostaglandine PGE₂, PGF₂ α , PGD₂, PGI₂, sowie der Thromboxane TxA₂ und TxB₂ (40). Die Rolle der Cyclooxygenaseprodukte bei der Regulierung des Asthma bronchiale ist nicht vollständig geklärt. Sowohl PGF₂ α , wie die Endoperoxide und TxA₂ besitzen bronchokonstriktorisches Eigenschaften, wobei PGG₂ und PGH₂ acht- bis zehnmal, TxA₂ 500 mal so wirksam ist wie PGF₂ α (56). PGF₂ α stimuliert außerdem die Histaminfreisetzung, PGE₂ hemmt sie und wirkt bronchodilatierend (36). Die antiinflammatorische Wirkung von ASS ist altbekannt und wird seit langem klinisch genutzt.

Unsere Ergebnisse zeigen, daß die Gabe von ASS histamin-induzierte asthmatische Reaktionen beim Meerschweinchen

im Vergleich zur unvorbehandelten Kontrollgruppe signifikant verstärkt. Dies könnte dadurch bedingt sein, daß ASS die Biosynthese protektiver Cyclooxygenaseprodukte wie PGE₂ reduziert. Bei ovalbumininduzierten asthmatischen Reaktionen verhindert ASS die Ausbildung einer Tachyphylaxie, die nach exogener Gabe von PGE₂ wieder auftritt (11). Eine zweite Erklärungsmöglichkeit bietet der sogenannte Lipocyclogenaseshift. Adcock postulierte, daß eine Hemmung der Cyclooxygenase zur vermehrten Katabolisierung von AA im Lipocyclogenaseweg führt (1). Alle bisher isolierten Lipocyclogenaseprodukte, die hydroperoxy-tetra-enoischen Säuren (HPETEs), die hydroxy-tetra-enoischen Säuren (HETEs), sowie die Leukotriene (LTA, LTB, LTC, LTD, LTE) sind hochwirksame Entzündungsmediatoren, die teils bronchokonstriktorisch wirken (5-HETE, LTC₄, LTD₄, LTE₄) (10, 27), teils Histamin freisetzen (5-HETE, 5-HPETE) (44, 45), teils chemotaktische Eigenschaften besitzen (HETEs, LTB₄) (23). Adcocks Hypothese stützt sich auf folgende Befunde: In vitro werden histamininduzierte Kontraktionen von Meerschweinchen tracheae durch Indomethacin und ASS verstärkt (43). Zwei experimentelle Substanzen (CLI, BW 755C), die sowohl Cyclooxygenase als auch Lipocyclogenaseweg blockieren, beeinflussen das Ausmaß der histamininduzierten Trachealmuskelkontraktion nicht, bewirken aber einen Rückgang der durch Indomethacin verstärkten Kontraktion auf Kontrollwerte (1).

Thromboxane werden bei anaphylaktischen und anaphylaktoiden Reaktionen in der Lunge sowohl vom Parenchym, als auch von aggregierenden Plättchen gebildet (39). Die Freisetzung von TxA₂ kommt dabei durch Histamin über die Stimulation der H₁-Rezeptoren zustande (6). Thromboxan wirkt an der Meerschweinchenlunge wesent-

lich stärker bronchokonstriktorisch, als Prostaglandin $F2\alpha$ (56). Außerdem fördert es die Plättchenaggregation (9). Die Thrombozyten setzen den platelet activating factor (PAF) frei (9), wodurch weitere Plättchenaggregation sowie Bronchialkonstriktion stimuliert wird (25).

SQ 80, 338 (1-(3-phenyl-2-propenyl)-1-H-imidazol) ist ein selektiver Inhibitor der Thromboxansynthetase und behindert die Plättchenaggregation (26). Imidazol, die Ausgangssubstanz von SQ 80, 338 besitzt die gleichen Eigenschaften in wesentlich schwächerem Ausmaß (38).

In unseren Versuchen bewirkte SQ 80, 338 eine signifikante Abschwächung der bronchialen Reaktionen auf die Histamininhalationen 4 und 5 (Zeitpunkt 60 und 70 Minuten). Es lag die Vermutung nahe, daß diese Wirkung durch eine selektive Reduktion der Thromboxansynthese und der Plättchenaggregation zustande kommt. Inzwischen wurde gezeigt, daß drei andere Inhibitoren der Thromboxansynthese und der Plättchenaggregation (Imidazol, Dazoxiben, CGS 13080) bei der kurzfristigen Intervall-inhalation mit Histamin keine protektive Wirkung besitzen. Auch die immunologische Verminderung der Thrombozyten durch Anti-Plättchen-Serum zeigte in diesen Versuchen keinen protektiven Effekt (14). Die Wirkung von SQ 80, 338 in unserem Modell ist also substanzspezifisch und läßt sich nicht durch die bekannten pharmakologischen Eigenschaften erklären. Es bestehen strukturelle Ähnlichkeiten zwischen Histamin- H_2 -Rezeptorblockern und Imidazol (2), doch ist eine Anti-histaminwirkung von SQ 80, 338 nicht nachgewiesen.

Neben den Histaminrezeptorantagonisten, ASS und SQ 80, 338 untersuchten wir einen weiteren Inhibitor von Entzündungsmediatoren. Es handelt sich um MK 447

(2-amino-methyl-4-t-butyl-iodophenol), einen sogenannten Radikalfänger. Sauerstoff- und Hydroxylradikale entstehen unter anderem beim reduktiven Abbau von PGG₂ zu PGH₂ und von 15-HPETE zu 15-HETE durch das Enzym Peroxidase (20, 31) und spielen bei der Entstehung von Entzündungsreaktionen vermutlich eine wichtige Rolle (21, 31). MK 447 zeigt in verschiedenen Tiermodellen antiinflammatorische Eigenschaften (32). Außerdem besitzt es ausgeprägte antiasthmatische Wirkung bei der ovalbumininduzierten Bronchialobstruktion des Meerschweinchens (58).

In unseren Versuchen führte MK 447 zu einer signifikanten Abschwächung der bronchialobstruktiven Reaktionen auf die 4. und 5. Histamininhalation (Zeitpunkt 60 und 70 Minuten). MK 447 und chemisch so verschiedene Substanzen wie Phenol, Lipoidsäure und Natriumjodid fangen Radikale. Da alle Verbindungen antiinflammatorisch wirken, wird angenommen, daß die entzündungshemmende Wirkung durch die radikalbindende Eigenschaft bedingt ist (19). Der protektive Effekt von MK 447 in unseren Versuchen scheint ebenfalls auf dieser Eigenschaft zu beruhen.

Wir fanden, daß die in vitro gut dokumentierte Histamintachyphylaxie in vivo nicht nachweisbar ist und postulierten, daß in vivo Sekundärmechanismen in Form von Entzündungsmediatoren die Tachyphylaxie überlagern. Wir konnten zeigen, daß Inhibitoren verschiedener Entzündungsmediatoren asthmatische Reaktionen auf Histamin signifikant abschwächen. Diese Ergebnisse können im Sinne unserer Hypothese gedeutet werden. Die Wirkung der von uns untersuchten Inhibitoren scheint jedoch unspezifisch zu sein. Es bedarf deshalb weiterer Untersuchungen zur Klärung der Frage, wie diese Inhibitoren im Einzelnen wirken.

Unsere Versuche zeigen, daß das Modell der kurzfristigen Intervallinhalation von Histamin für die Untersuchung bestimmter Regelmechanismen von Bedeutung ist, die erst nach wiederholten asthmatischen Reaktionen wirksam werden. Vergleicht man die Reaktionen auf Histamininhalation 1 mit 3 (Zeitpunkt 0, 10, 20 Minuten) nach Gabe von Clemastine/Cimetidine, SQ 80, 338 oder MK 447 mit den Reaktionen des unvorbehandelten Kollektivs, sieht man keine signifikanten Unterschiede. Diese zeigen sich erst nach den Inhalationen 4 und 5 (Zeitpunkt 60 und 70 Minuten). Die untersuchten Substanzen entfalten ihre protektive Wirkung also erst bei der 4. und 5. Inhalation. Die Aussage von Harris, daß SQ 80, 338 den histamininduzierten Bronchospasmus beim Meerschweinchen nicht beeinflußt (26) ist richtig, solange man eine einzelne Testung betrachtet. Sie sagt jedoch nichts über die Fähigkeit der Substanz aus, die zunehmende bronchiale Empfindlichkeit bei kurzfristiger Intervallinhalation von Histamin zu bremsen.

Die Untersuchung des Phänomens zunehmender bronchialer Empfindlichkeit auf Histamin nach wiederholter Histamingabe und dessen pharmakologische Beeinflussung ist möglicherweise von klinischer Bedeutung. Bei vielen Asthmapatienten kommt es zu sogenannten verzögerten asthmatischen Reaktionen. Einer einmaligen Antigenexposition folgt der akute Anfall, eine vorübergehende Besserung und darauf eine anhaltende Verschlechterung der Atemfunktion, die Stunden bis Tage dauert. Diese verzögerten Reaktionen werden möglicherweise durch die Degranulation einwandernder basophiler Leukozyten oder durch eine zweite Degranulation von Mastzellen verursacht. Beides würde zu einer langanhaltenden endogenen Histaminstimulation führen (41), die wir in unserem Tiermodell durch eine wiederholte exo-

gene Histamingabe imitierten. Bei einem Patienten mit verzögerter asthmatischer Reaktion wurde ein erhöhter Histaminspiegel im venösen Plasma gefunden, was auf eine systemische Freisetzung des Mediators während dieser Phase hindeutet (3). Über eine gesteigerte Histaminempfindlichkeit während verzögerter asthmatischer Reaktionen beim Menschen ist kürzlich berichtet worden (8).

Als Ergebnis unserer Versuche ist festzuhalten, daß Meerschweinchen auf wiederholte Inhalationen gleichbleibender Dosen Histamin mit fortlaufend stärkeren Asthmaanfällen reagieren. Eine Kombination der Histamin H1- und H2-Rezeptorantagonisten Clemastine und Cimetidine, sowie der Thromboxansyntheseinhibitor SQ 80, 338 und der Radikalfänger MK 447 bewirken eine signifikante Abschwächung der Reaktionen auf die Inhalationen 4 und 5 (Zeitpunkte 60 und 70 Minuten). Der Cyclooxygenaseinhibitor Acetylsalicylsäure führt zu einem signifikanten Anstieg der Reaktionsstärke auf die Inhalationen 2 und 3 (Zeitpunkte 10 und 20 Minuten).

4.2. Versuche mit langfristig wiederholter Inhalation

Die Untersuchungen an vier Kollektiven sensibilisierter Meerschweinchen, die elf bis sechzehn Tage lang jeweils einmal täglich gleichbleibende Dosen vernebelter Ovalbumin- bzw. Histaminlösung inhalierten, zeigen ein gemeinsames Ergebnis: 34 von 36 untersuchten Tieren wurden in den ersten sieben Tagen gegen die verabreichte Ovalbumin- bzw. Histamindosis nahezu oder vollständig refraktär, das heißt, das post inhalationem gemessene Kompressionsvolumen lag wenig über oder innerhalb

des Normbereichs. Dieses Ergebnis läßt den Schluß zu, daß es bei Meerschweinchen neben der Tachyphylaxie auch längerfristig wirkende Schutzmechanismen gegen wiederholte Asthmaanfälle gibt. Welcher Art diese Mechanismen sind, geht aus unseren Untersuchungen nicht hervor. Es ist jedoch fraglich, ob es sich um ein passives Phänomen im Sinne einer Mastzellerschöpfung handelt. Wie die kurzfristige Intervallinhalation mit Ovalbumin zeigt, enthalten die Mastzellen der Meerschweinchenlunge ausreichend Mediatoren, um innerhalb von 30 Minuten dreimal eine bronchiale Obstruktion auszulösen (11). Außerdem wirken die längerfristigen Schutzmechanismen auch bei wiederholter Histamininhalation, bei der immer die gleiche Menge exogener Mediatorsubstanz zugeführt wird.

In allen vier Kollektiven gibt es Tiere, die bereits am Tag 2 nicht mehr auf die Inhalation reagieren, während andere Tiere zur Entwicklung der Refraktärphase drei, vier oder fünf, manche sieben Tage brauchen. Statistisch betrachtet reagieren alle Kollektive an den Tagen 2 und 3 schwächer als am Tag 1, doch steigt die Stärke der Reaktionen bei drei von vier Gruppen (OA ohne Vorbehandlung, OA nach Indomethacin, Histamin ohne Vorbehandlung) vorübergehend wieder an. Der zweite Rückgang der Reaktionen ist bei allen Gruppen endgültig. Diese Befunde deuten darauf hin, daß es von Tier zu Tier einer unterschiedlichen Anzahl asthmatischer Reaktionen bedarf, um die längerfristigen Schutzmechanismen auszulösen.

Die Ausbildung der längerfristigen Schutzmechanismen wird durch Verabreichung von Cyclooxygenaseinhibitoren vor jeder Ovalbumininhalation nicht beeinträchtigt. Indomethacin (10 mg/kg Körpergewicht) zeigt keinen we-

sentlichen Einfluß auf den Reaktionsverlauf, ASS (10 mg/kg Körpergewicht) scheint die Ausbildung der Schutzmechanismen zu beschleunigen (Abb. 8). Bei der kurzfristigen Intervallinhalation mit Ovalbumin wird die Tachyphylaxie durch Indomethacin eingeschränkt, durch ASS völlig verhindert (11). Dieser Unterschied, sowie die Tatsache, daß auch bei einmal täglich wiederholter Histamininhalation regelmäßig eine Refraktärphase auftritt, läßt vermuten, daß den längerfristigen Selbstschutzmechanismen andere Vorgänge zugrundeliegen, als der Tachyphylaxie. Diese Vorgänge sind möglicherweise unabhängig von Cyclooxygenaseprodukten.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In vitro reagieren isolierte Trachealmuskelstreifen auf wiederholte Histaminexposition mit zunehmend schwächeren Kontraktionen. Gegenstand unserer Arbeit war die Frage, ob eine derartige Tachyphylaxie auf Histamin auch in vivo zu beobachten ist.

Fünf Gruppen von sieben bis neun Meerschweinchen wurden zu den Zeitpunkten 0, 10, 20, 60 und 70 Minuten mit vernebelter Histaminlösung inhalativ getestet. Die Stärke der resultierenden Bronchialobstruktionen wurde ganzkörperplethysmographisch gemessen.

Die unvorbehandelte Kontrollgruppe zeigte auf gleichbleibende Dosen Histamin asthmatische Reaktionen, die von Inhalation zu Inhalation starker wurden. Vorbehandlung mit einer Kombination der Histamin-H₁- und H₂-Rezeptorantagonisten Clemastine und Cimetidine (0,12 mg bzw. 10 mg/kg KG i.p.), sowie mit dem Thromboxansyntheseinhibitor SQ 80, 338 (10 mg/kg KG i.p.) und dem Radikalfänger MK 447 (10 mg/kg KG i.p.) führte zu einer signifikanten Abschwächung ($p < 0,01$) der asthmatischen Reaktionen zu den Zeitpunkten 60 und 70 Minuten. Der Cyclooxygenaseinhibitor Acetylsalicylsäure (10 mg/kg KG p.o.) bewirkte einen signifikanten Anstieg ($p < 0,01$) der Reaktionsstärke zu den Zeitpunkten 10 und 20 Minuten.

Die zunehmende bronchiale Empfindlichkeit auf gleichbleibende Dosen Histamin in vivo steht im Gegensatz zu den erwähnten in vitro Befunden. Generell ist zu vermuten, daß die in vitro beobachtete Histamintachyphylaxie in vivo durch Sekundärprozesse überlagert ist. Der Anstieg der Reaktionsstärke auf wiederholte Histamininhalation wird durch bestimmte Mediatorantago-

nisten behindert. Es ist also denkbar, daß sekundäre Entzündungsmediatoren die pathophysiologische Grundlage jener Sekundärprozesse bilden.

Ergänzend wurden vier Gruppen von Meerschweinchen ($n = 6 - 12$) acht bis zehn Tage lang einmal täglich mit gleichbleibenden Dosen Ovalbumin bzw. Histamin inhalativ getestet. 34 von 36 untersuchten Tieren wurden gegen diese Ovalbumin- bzw. Histamindosen innerhalb von sieben Tagen refraktär. Tägliche Vorbehandlung mit den Cyclooxygenaseinhibitoren Acetylsalicylsäure bzw. Indomethacin (jeweils 10 mg/kg KG p.o. bzw. i.p.) behinderte die Entwicklung nicht. Es scheint also beim Meerschweinchen längerfristig wirkende endogene Schutzmechanismen gegen wiederholte Asthmaanfälle zu geben, die möglicherweise prostaglandinunabhängig sind.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. ADCOCK, J.J., Garland, L.G.: A possible role for lipoxygenase products as regulators of airway smooth muscle reactivity.
Br. J. Pharmacol. 69:167 (1980).
2. ALLAN, G., Eakins, K.E., Kulkarni, P.S., Levi, R.: Inhibition of thromboxane A₂ biosynthesis in human platelets by burimamide.
Br. J. Pharmacol. 71:157 (1980).
3. ALLEN, D., Mathison, D., Arroyave, C., Wagner, P., Plow, E., Tan, E.: Mediator release during allergen induced bronchoconstriction in asthmatic subjects.
The Aspen Lung Conference (1978).
4. ANDERSON, W.H., Krzanowski, J.J., Polson, J.B., Szentivanyi, A.: Characteristics of histamine tachyphylaxis in canine tracheal smooth muscle.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 308:117 (1979a).
5. ANDERSON, W.H., Krzanowski, J.J., Polson, J.B., Szentivanyi, A.: Increased synthesis of prostaglandin-like material during histamine tachyphylaxis in canine tracheal smooth muscle.
Biochem. Pharmacol. 28:2223 (1979b).
6. BERTI, F., Folco, G.C., Nicosia, S., Omini, C., Pasargiklian, R.: The role of histamine H₁- and H₂-receptors in the generation of thromboxane A₂ in perfused guinea pig lungs.
Br. J. Pharmacol. 65:629 (1979).
7. BRINK, C., Duncan, P.G., Douglas, J.S.: The response and sensitivity to histamine of respiratory tissues from normal and ovalbumine sensitized guinea pigs: effects of cyclooxygenase and lipoxygenase inhibition.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 217:592 (1981).
8. CARTIER, A., Thomson, N.C., Frith, P.A., Roberts, R., Hargrave F.E.: Allergen induced increase in bronchial responsiveness to histamine: relationship to the late asthmatic response and change in airway caliber.
J. Allergy Clin. Immunol. 70:170 (1982).

9. CHIGNARD, M., le Couedic, J.P., Tence, M., Vargaftig, B.B., Benveniste, J.: The role of platelet activating factor in platelet aggregation. *Nature* 279:799 (1979).
10. COPAS, J.L., Borgeat, P., Gardiner, P.J.: The actions of 5-, 12- and 15-HETE on tracheobronchial smooth muscle. *Prostaglandins, Leukotrienes and Medicine* 8:105 (1982).
11. DORSCH, W., Frey, L.: Allergen tachyphylaxis of guinea pigs in vivo: a prostaglandin E mediated phenomenon? *Naunyn - Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 317:351 (1981).
12. DORSCH, W., Frey, L., Müller, W.: In vivo allergen tachyphylaxis in guinea pig lung is mediated by endogenous prostaglandin E biosynthesis. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 325:275 (1984).
13. DORSCH, W., Frey, L., Neuhauser, J.: Histamin- und Allergen-Tachyphylaxie beim lebenden Meerschweinchen. *Allergologie* 6/3:94 (1983).
14. DORSCH, W., Hintschich, C., Neuhauser, J., Weber, J.: Sequential histamine inhalations cause increased bronchial histamine reactivity in guinea pigs: role of platelets, thromboxanes and prostacyclin. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 317:148 (1984).
15. DORSCH, W., Reimann, H.J., Neuhauser, J.: Histamine 1 - histamine 2 antagonism: Effect of combined clemastine and cinetidine pretreatment of allergen and histamine-induced reactions of the guinea pig lung in vivo and in vitro. *Agents and Actions* 12, 1/2:113 (1982).
16. DOUGLAS, J.S., Dennis, M.W., Ridgeway, P.P., Bouhuys, A.: Airway constriction in guinea pigs: interaction of histamine and autonomic drugs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 184, 1:169 (1973).
17. DOUGLAS, J.S., Ridgeway, P.P., Brink, C.: Airway responses of guinea pig in vivo and in vitro. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 202:116 (1977).

18. DULABH, R., Vickers, M.R.: The effects of H₂ receptor antagonists on anaphylaxis on the guinea pig. *Agents and Actions* 8:559 (1978).
19. EGAN, R.W., Gale, P.H., Beveridge, G.C., Phillips, G.B.: Radical Scavenging as the mechanism for stimulation of prostaglandin cyclooxygenase and depression of inflammation by lipoic acid and sodium iodide. *Prostaglandins* 16,6:861 (1978).
20. EGAN, R.W., Gale, P.H., Kuehl, F.A. jr.: Reduction of hydroperoxides in the prostaglandin biosynthetic pathway by a microsomal peroxidase. *J. Biol. Chem.* 254,9:3295 (1979).
21. EGAN, R.W., Paxton, J., Kuehl, F.A. jr.: Mechanism for irreversible self-deactivation of prostaglandin synthetase. *J. Biol. Chem.* 251:7329 (1976).
22. GOETZL, E.J.: Indicators of immediate hypersensitivity derived from arachidonic acid. *New. Engl. J. Med.* 303:822 (1980).
23. GOETZL, E.J., Pickett, W.C.: The human PMN leukocyte chemotactic activity of complex hydroxyeicosatetraenoic acids (HETE's). *J. Immunol.* 129:1789 (1980).
24. HAHN, F.: Wirksamkeit und Wirkungsgrenzen der Antihistaminika bei allergischen Erkrankungen. *Dt. Ärzteblatt* 17 : 575 (1979);
25. HALONEN, M., PLAMER, J.D., LOHMANN, I.C., McManns, L.M., Pinckard, N.: Differential effects of platelet depletion on the physiologic alterations of IgE anaphylaxis and acetyl-glycerol-ether-phosphorylcholine-infusion in the rabbit. *Am. Rev. Respir. Dis.* 124:416 (1981).
26. HARRIS, D.N., Greenberg, R., Philips, M.B., Osman, G.H. jr., Antonaccio, M.J.: Effect of SQ 80, 338 (1-(3-phenyl-2-propenyl)-1-H-imidazol) on thromboxane synthetase activity and arachidonic acid induced platelet aggregation and bronchoconstriction. *Adv. Prostaglandin Thromboxane Res.* 6:437 (1980).

27. HEDQVIST, P., Dahlén, S.E., Björk, J.: Pulmonary and vascular actions of leukotrienes. Leukotrienes and other Lipoxygenase Products. Raven Press, New York (1982).
28. HINTSCHICH, C.: Wiederholte Histamininhalationen steigern die bronchokonstriktorische Reaktion der Meerschweinchenlunge auf Histamin. Pharmakologische Studien mit Thromboxansyntheseinhibitoren, Prostacyclin und Radikalfängern. Inaugural-Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München (1984).
29. HYMAN, A.L., Spannhake, E.W., Kadowitz, Ph.J.: Prostaglandins and lung. Am. Rev. Respir. Dis. 117:111 (1978).
30. KALINER, M., Sigler, R., Summers, R., Shelhammer, J.H.: Effects of infused histamine: analysis of the effects of H₁- and H₂-histamine receptor antagonists on cardiovascular and pulmonary responses. J. Allergy Clin. Immunol. 68:365 (1981).
31. KUEHL, F.A., Humes, J.C., Ham, E.A., Egan, R.W., Dougherty, H.W.: Inflammation: the role of peroxide-derived products. Adv. Prostaglandin Thromboxane Res. 6:77 (1980).
32. KUEHL, F.A., Purvis, K., Calandra, R., Naess, O., Atcramadad, A., Torjesen, P.A., Hanson, V.: Role of prostaglandin endoperoxide PGG₂ in inflammatory processes. Nature 265:170 (1977).
33. KRZANOWSKI, J.J., Anderson, W.H., Polson, J.B., Szentivanyi, A.: Prostaglandin mediated histamine tachyphylaxis in subhuman primate tracheal smooth muscle. Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 247, 1:155 (1981).
34. LICHTENSTEIN, L.A., Gillespie, E.: Inhibition of histamine release controlled by H₂-receptors. Nature 244:287 (1973).
35. LORENZ, W., Doenicke, A., Schoening, B., Mamorski, J., Weber, D., Hinterlang, E., Schwarz, B., Neugebauer, E.: H₁- + H₂-receptor antagonists for premedication in anaesthesia and surgery: A critical view based on randomized clinical trials with haemaccel and various antiallergie drugs. Agents and Actions 10:114 (1980).

36. MATHE, A.A.: Studies on actions of prostaglandins in the lung.
Acta Physiol. Scand. Suppl. 441:1 (1976).
37. MATHE, A.A., volicer, L., Puri, S.K.: Effect of anaphylaxis and histamine, pyrilamine and burimamide on levels of cyclic AMP and cyclic GMP in guinea pig lung.
Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol. 8:635 (1974).
38. MONCADA, S., Bunting, S., Mullane, K., Thorogood, P., Vane, J.R.: Imidazol: a selective inhibitor of thromboxane synthetase.
Prostaglandins 13:611 (1977).
39. MONCADA, S., Vane, J.R.: Pharmacology and endogenous roles of prostaglandin endoperoxides, thromboxane A₂ and prostacyclin.
Pharmac. Rev. 30:392 (1979).
40. MORLEY, J., Beets, J.L., Bray, M.A., Paul, W.: Regulation of allergic responses by prostaglandins: a review.
J. Royal Soc. Med. 73:443 (1980).
41. NAGY, L., Lee, T.H., Kay, A.B.: Neutrophil chemotactic activity in antigen induced late asthmatic reactions.
New. Engl. J. Med. 306:497 (1982).
42. NORN, S., Permin, H., Skov, P.S.: H₂ antihistamines (cimetidine) and allergic-inflammatory reactions.
Allergy 35,4:357 (1981).
43. OREHEK, J., Douglas, J.S., Bouhuys, A.: Contractile responses of the guinea pig trachea in vitro: modification by prostaglandin synthesis inhibiting drugs.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 194:554 (1975).
44. PETERS, S.P., Kagey-Sobotka, A., MacGlashan, D.W., Siegel, M.I., Lichtenstein, L.M.: The modulation of human basophil histamine release by products of the 5-lipoxygenase pathway.
J. Immunol. 129,2:797 (1982).
45. PETERS, S.P., Siegel, M.I., Kagey-Sobotka, A., Lichtenstein, L.M.: Lipoxygenase product modulate histamine release in human basophils.
Nature 292:455 (1981).

46. PSYCHREMBEL, W.: Klinisches Wörterbuch.
Berlin (1977).
47. ROSSONI, G., Omini, C., Vigano, T., Mandelli, V.,
Folco, G.C., Berti, F.: Bronchoconstriction by
histamine and bradykinin in guinea pigs: rela-
tionship to thromboxane A₂ generation and the
effect of aspirin.
Prostaglandins 20:547 (1980).
48. ROTH, G.J., Stanford, N., Majerns, P.W.: Ace-
tylation of prostaglandin synthetase by aspirin.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 72:3073 (1975).
49. RUFFIN, R.E., Alpers, J.H., Crockett, A.J.,
Hamilton, R.: Repeated histamine inhalation tests
in asthmatic patients.
J. Allergy Clin. Immunol. 67:123 (1981).
50. SAMUELSSON, D.: The leukotrienes: An introduction.
Leukotrienes and other lipoxygenase products.
Raven Press. New York (1982).
51. SMITH, J.A., Mansfield, L.E., de Shazo, R.D.,
Nelson, H.S.: An evaluation of the pharmacologic
inhibition of the immediate and late cutaneous
reactions to allergen.
J. Allergy Clin. Immunol. 65:118 (1980).
52. SNAPPER, J.R., Braasch, P.S., Ingram, R.H., Loring,
S.H., Drazen, J.M.: In vivo effect of cimetidine
on canine pulmonary responsiveness to aerosol hi-
stamine.
J. Allergy Clin. Immunol. 66:70 (1980).
53. SNAPPER, J.R., Braasch, P.S., Ingram, R.H., Loring,
S.H., Drazen, J.M.: Effects of beta adrenergic
blockade on histamine and prostaglandin F_{2a} res-
ponsiveness in the dog.
J. Allergy Clin. Immunol. 67 : 199 (1981).
54. SNAPPER, J.R., Drazen, J.M., Loring, S.H., Schneider,
W., Ingram, R.H.: Distributions of pulmonary respon-
siveness to aerosol histamine in dogs.
J. Appl. Physiol. Respirat. Environ. Exercise
Physiol. 44:738 (1978).
55. SOBOTKA, A.K., Marone, G., Lichtenstein, L.M.:
Indomethacin, arachidonic acid metabolism and
basophil histamine release.
Monogr. Allergy 14:285 (1979).

56. SVENSSON, J., Strandberg, H., Tuvemo, T., Hamberg, M.: Thromboxane A₂: effects on airway and vascular smooth muscle.
Prostaglandins 14:425 (1977).
57. VANCE, J.R.: The mode of action of aspirin and similar compounds.
J. Allergy Clin. Immunol. 58:621 (1976):
58. WALDHERR, U.: "Compressed Air" - Ein neuer Parameter zur nicht-invasiven Messung der Bronchialobstruktion bei Meerschweinchen.
Inaugural Dissertation, Ludwig-Maximilians- Universität München (1983).
59. WEBER, P.C., Siess, W., Scherer, B.: Vaskuläre, thrombozytäre und renale Prostaglandine.
Klin. Wochenschr. 57:425 (1979).
60. YAMATAKE, Y., Jasagawa, S., Yanaura, S., Kobayashi, N.: Involvement of histamine H₁- and H₂-receptors in induced asthmas in dogs.
Jpn. J. Pharmacol. 27,6:791 (1978).
61. YEN, S.S., Mathé, A.A., Dugan, J.J.: Release of prostaglandins from healthy and sensitized guinea pig lung and trachea by histamine.
Prostaglandins 11:227 (1976).

GRATIARUM ACTIO

Herrn Professor Dr. med. Spiess danke ich herzlich für die Möglichkeit, an seiner Klinik zu arbeiten.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. Dorsch, der mir das Thema überließ und der die experimentellen Untersuchungen sowie die Abfassung des Manuskriptes hervorragend betreute. Indem er meine Arbeit mit zahlreichen, wohlwollend kritischen Bemerkungen und Anregungen förderte, ohne mir die Mühe des selbständigen Lernens, des Fehlermachens, Infragestellens und Entdeckens abzunehmen, lehrte er mich Vieles über wissenschaftliches Forschen. 1

Danken möchte ich auch Herrn Dr. med. habil Kreicji. Er stellte mir seinen Rechner zur Verfügung und nahm sich immer wieder Zeit, Fragen der Versuchsplanung und statistischen Auswertung mit mir zu besprechen und freundlichen Rat zu geben.

CURRICULUM VITAE

Name:	Hannes Neuhauser
Geburtsdatum:	21.4.1956
Geburtsort:	Stuttgart
Eltern:	Eva Neuhauser Dr. Werner Neuhauser
1962 - 1966:	Grundschule
1966 - 1977:	Gymnasium
1977 - 1984:	Studium der Medizin in München, Leicester (England) und Boston (USA)
seit 8/1984:	Wissenschaftlicher Assistent an der Psychiatrischen Univer- sitätsklinik der Ludwig-Maxi- milians-Universität München

1870-1871

1871-1872

1872-1873

1873-1874

1874-1875

1875-1876

1876-1877

1877-1878

1878-1879

1879-1880

1880-1881

1870-1871

1871-1872

1872-1873

1873-1874

1874-1875

1875-1876

1876-1877

1877-1878

1878-1879

1879-1880

1880-1881

